

## 1. Bevezetés

Az endogén pszichózisokhoz sorolt schizophrenia a lakosság 1%-át érintő pszichiátriai megbetegedés. A megbetegedés tünetegyüttesét a pozitív és negatív szindrómákba soroljuk és ugyancsak kísérője a kognitív deficit. A kezelésre számos gyógyszer, az antipszichotikumok (antischizofren ágensek, neuroleptikumok, major trankvillánsok) kerültek kifejlesztésre. Ezeket első és második generációs antipszichotikumokként osztályozzuk hatásmódjuk alapján és attól függően, hogy a megbetegedés mely tünetegyüttesét (együtteseit) befolyásolják. Az első generációs antipszichotikumok (klórpromazin, haloperidol, pimozyd) jellemzően a dopamin  $D_2$  és  $D_1$  receptorokat blokkolják és a pozitív szindrómákra hatnak elsődlegesen. A második generációs antipszichotikumok (risperidon, olanzapin) erősebben blokkolják a szerotonin  $5-HT_2$  receptorokat és ugyancsak antagonisták a dopamin  $D_2$  receptorokon. Ezek a szerek a pozitív tünetek mellett a negatív tünetegyüttest is kedvezően befolyásolják, a kognitív deficit mérsékelt befolyásolása mellett. Az antipszichotikumok jellemzően multireceptorális szerek, tartós adagolásuk számos mellékhatást vált ki. Ez utóbbiak valamint a különböző terápiás hatéktivitás, a megbetegedés terápia rezisztens formái intanzív kutatást indukáltak, amelyek elvezetett a harmadik generációs, ezidő szerint kísérleti fázisban lévő antipszichotikumok felismeréséhez (Spedding et al., 2003).

A schizofreniában a központi idegrendszer számos neurotranszmitter rendszerének rendellenes működése mutatható ki és egyes agyterületeken, mint a prefrontális cortexben, kiterjedt neuron pusztulás (GABA interneuronok) következik be. Attól függően, hogy a megbetegedés magyarázatára mely neurotranszmitter rendszer kerül előtérbe, beszélünk a schizofrenia dopaminerg, glutamáterg, szerotonerg illetve GABAerg elméletéről. Ezek az elméletek különböző mértékben kerültek kidolgozásra és önmagában egyik sem elegendő a megbetegedés magyarázatára. A schizofrenia dopaminerg elmélete a különböző dopamin pályák hiperaktivitásán alapul és minden antipszichotikum rendelkezik dopamin receptor blokkoló hatással. A második generációs antipszichotikumok több szerotonin receptor típust is gátolnak ( $5-HT_1$ ,  $5-HT_2$ ,  $5-HT_7$ ), ami a kórképben a szerotonerg rendszer hiperaktivitására utal. A glutamáterg elmélet a glutamáterg pályák, illetve a pályákhoz tartozó receptorok (elsődlegesen az NMDA és AMPA receptorok) hipofunkcionalitására épül. Az úgy nevezett harmadik generációs antipszichotikumok a glutamáterg rendszer receptorait aktiválják: az NMDA receptor esetén a glicinB kötőhely direkt agonistái vagy az indirekt agonista glicin transzporter1 gátlók, míg az AMPA receptor esetén a pozitív allosterikus modulátorok (Kertész et al., 2004) kerülnek besorolásra. Az AMPA receptor pozitív modulátorok mellett egyes negatív modulátorok is antipszichotikus hatással rendelkeznek, az ezt vizsgáló hatás-szerkezet összefüggéseket a közleményekben tárgyaltuk (Hársing, 2005a; Hársing, 2005d). Ugyancsak a harmadik generációs antipszichotikumokhoz tartoznak a kísérleteinkben nem vizsgált  $D_2/D_3$  receptor antagonisták is.

## 2. Célkitűzés

A T 043511 számú OTKA pályázatunk témája olyan schizophrenia modell kidolgozása volt, amelyben vizsgálhatóvá vált neuronális pályák pszichotikus állapotokra jellemző aktivitás változása valamint új típusú antipszichotikumok hatásmód analízise. Pályázatunkban konvencionális és újonnan kifejlesztett agyszelet technikák alkalmazásával glicin transzporter1 gátlók valamint  $5-HT_7$  receptor antagonisták hatását vizsgáltuk a központi idegrendszeri neurotranszmitter rendszerekre figyelembe véve e szerek potenciális antipszichotikus hatását.

### 3. A kortikostriális pálya vizsgálata komplex kortex-striátum agyszelet készítményben

Schizofreniában az extrapiramidális rendszer dopaminerg-glutamaterg innervációja megváltozik, ami a talamikus filter működésének csökkenését eredményezi. A két transzmitter rendszer egyidejű működésének vizsgálatára komplex agyszelet technikát dolgoztunk ki, amely tartalmazza a kéreg, a kortikostriális glutamaterg projekciót és a striátum állományát (Jurányi et al., 2002). Tudomásunk szerint ilyen agyszelet készítményt neurotranszmitter felszabadulás mérésre korábban nem alkalmaztak. A kéreg és a striátum állományából elkülönített módon történő transzmitter felszabadulás meghatározáshoz két kompartmentes nyitott-terű szuperfúziós szervedényt fejlesztettünk ki az Experimetria Kft-vel (Budapest) együttműködve. A kísérleti rendszer ma kereskedelmi forgalomban van. A szervedényt összehasonlítottuk az irodalomból ismert egyéb agyszelet szervedényekkel és azt közleményben leírtuk (Jurányi és Hársing, 2004b).

Első lépésben jellemeztük a kifejlesztett kísérleti rendszert oly módon, hogy [<sup>3</sup>H]dopamin felszabadulást mértünk kortikostriális agyszeletből elkülönítve a kéreg és a striátum állományát (Jurányi et al., 2003). A kéreg elektromos ingerlése a striátum állományában [<sup>3</sup>H]dopamin felszabadulást váltott ki, amely a kortikostriális glutamaterg pálya által közvetített és mértékét különböző kísérleti feltételekkel illetve farmakonokkal befolyásolni tudtuk. Kimutattuk, hogy a felszabaduló glutamát direkt módon fokozza a nigrostriális dopaminerg axon terminálisok működését, indirekt módon a GABAerg interneuronok és/vagy projekciós neuronok axon kollaterálisai által gátolja azt (Hársing et al., 2003b; Jurányi et al., 2004c).

#### 3.1. 6-hidroxi-dopamin kezelés hatása

Az általunk alkalmazott kortikostriális agyszelet valamint a kifejlesztett szervedény működését különböző kísérleti feltételek mellett is vizsgáltuk. A dopaminerg-glutamaterg reciprok innerváció egyensúlyát megváltoztattuk azáltal, hogy a nigrostriális dopaminerg neuronokat 6-hidroxi-dopamin-nal károsítottuk (Jurányi et al., 2004a). Kimutattuk, hogy 6-hidroxi-dopamin-nal károsított, parkinson kór-szerű striális szövetben a neuroprotektív és antiparkinson hatásmechanizmussal rendelkező 2,3-benzodiazepin szerkezetű vegyületek (Kapus et al., 2004; Matucz et al., 2004; Szénási és Hársing, 2004; Gressens et al., 2005), fokozzák a dopamin felszabadulását és turnover-ét (Megyeri et al., 2006, közlés alatt).

#### 3.2. Kiváltott hipoxia hatása

További vizsgálatainkban a kortikostriális glutamaterg és a nigrostriális dopaminerg pályákat hipoxiás körülmények között vizsgáltuk. Hipoxiás állapotot patkányban az artéria cerebri media tranziens elzárásával váltottunk ki. Ilyen körülmények között a glutamaterg és a dopaminerg innerváció a striátum állományában egyaránt károsulnak. Azt találtuk, hogy hipoxiás körülmények között, a 6-hidroxi-dopamin neurotoxinhoz hasonlóan, a nigrostriális dopaminerg axon terminálisok kompenzációs hiperaktivitást mutatnak és a dopamin tartalom nagyobb hányada szabadul fel idegimpulzus hatására (Benedek et al., 2006, közlés alatt). A megfigyelt kompenzációs mechanizmust a hipoxiás inzultust hisztokémiai módszerekkel bizonyított túlélő neuronok biztosíthatják (Hársing et al., 2004b).

## 4. A schizofrenia glutamáterg elméletének vizsgálata

### 4.1. A glicin transzporter1 gátlók hatása

A 6-hidroxi-dopaminnal illetve hipoxiával károsított striátum szövetével szemben, schizophreniában a kortikostriátális glutamáterg és a nigrostriátális dopaminerg neuronális aktivitások ellentétes módon változnak: a glutamáterg tónus csökken és a dopaminerg aktivitás megemelkedik. Kísérleti körülmények között ilyen állapotot az NMDA típusú glutamát receptor blokkolásával váltható ki (Jurányi és Hársing, 2006, közlés alatt). Kortikostriátális szeletet készítettünk, azt [<sup>3</sup>H]dopaminnal előinkubáltuk, a szeletet két-kompartmentes szervedénybe helyeztük és a kéreg és a striátum állományt elkülönítve szuperfundáltuk. Előkísérletekben NMDA receptor antagonistaként fenciklidint alkalmaztunk, mivel ez a szer humánban pszichotikus állapot kialakulását váltja ki. Azt találtuk, hogy a fenciklidin nem, de az MK-801 (dizolcopin) nem-kompetitív NMDA receptor antagonistá befolyásolta a kéreg elektromos ingerlésével kiváltott striátális [<sup>3</sup>H]dopamin felszabadulást. Az MK-801 hatása bifázisosnak bizonyult: alacsony koncentrációban (1 µM) gátolta, magasabb koncentrációkban (3-10 µM) növelte a kiváltott dopamin felszabadulást. A bifázisos hatás arra utal, hogy több, különböző elhelyezkedésű (dopaminerg axon terminálison és GABA projekciós neuronokon) NMDA receptor involvált az MK-801 hatásában. Az MK-801 dopamin felszabadulást fokozó hatását a glicin transzporter1 gátló Org-24461 alacsony koncentrációban (1 mikroM) fokozta, nagy koncentrációban (3-10 µM) gátolta azt. Az Org-24461 kettős hatása arra utalhat, hogy kettős NMDA receptorok eltérő érzékenységet mutatnak a koagonista glicin iránt. Az Org-24461 megfigyelt viselkedése szerepet játszhat a vegyület antipszichotikus hatásában (Hársing és Jurányi, 2006c).

A GlyT1 gátlók antipszichotikus hatása azon alapul, hogy a schizofrenia-ra jellemző NMDA receptor hipofunkcionalitás a receptor koagonistájának, a glicin koncentrációjának megemelkedése a receptor működést normális szintre emeli. Kísérleteinkben az így ható vegyületek közül két anyagot, az Org-24461-et és az NFPS-t vizsgáltuk. A két vegyület nem-transzportálódó irreverzibilis karrier gátló, neurokémijukat és központi idegrendszeri farmakológiájukat (antipszichotikus és anxiolitikus hatások) közleményben írtuk le (Hársing et al., 2003a).

Az Org-24461 antischizofren hatását tovább vizsgálva kongresszusi poszter bemutatót készítettük (Hársing et al., 2005c). A bemutatott posztert a The Investigational Drugs Journal kongresszusról irt recenzójában beszámolót közölt.

Feltételeztük, hogy hipoxiás körülmények között az excesszív glutamát kiáramlás a glicin transzporter1 tónusos, fordított irányú működését váltja ki. Az így kiáramló glicin az NMDA receptorok neurotoxicitásért felelős izgalmi állapotának fenntartásában vehet részt (Szénási et al., 2003). A glicin transzportert1 gátlók a karrier molekula reverz működésének gátlásával antiischemiás hatást hozhatnak létre (Hársing et al., 2005e). Ischemiás állapot a glicin transzporter1 immunohisztokémiai módszerrel kimutatott expresszállódását megváltoztathatja (Kalló et al., 2005).

A mind nagyobb számban megjelenő, antipszichotikus glicin transzporter1 gátlókat tárgyaló közlemények arra irányították figyelmünket, hogy a vegyület csoportról összefoglaló közleményt készítsünk. A megjelenés alatt álló review a glicin transzporter1 gátlók neurobiológiáját és medicinális kémiáját foglalja össze (Hársing et al., 2006a).

A glicin transzporter1 gátlók antipszichotikus hatásában érvényesülő mechanizmusról több kongresszusi posztert készítettünk (Szabo et al., 2003; Jurányi és Hársing, 2004d; Szabó et al., 2004; Szabó et al., 2005).

## **5. A schizofrenia szerotonerg elméletének vizsgálata**

### *5.1. Az 5-HT<sub>7</sub> receptor antagonisták hatása*

A pszichotikus állapotok mediálásában az agykéreg szerotonin receptorai (5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>7</sub>) vesznek részt. Ezen agyterület szerotonerg innervációja a rafe magokból indul ki. Az agykéreg és a rafe magok között reciprok innerváció áll fenn, amelyet a rafe-kortikális szerotonerg és a kortiko-rafe glutamaterg projekciós neuronok hoznak létre. Kísérleteinkben vizsgálat tárgyává tettük a rafe magok területén a glutamaterg axon terminálisok és a szerotonerg projekciós neuronok interakcióját. Ezen vizsgálatok második célja az 5-HT<sub>7</sub> receptorok szerepének és rafe magon belüli lokalizációjának meghatározása volt.

Vizsgálatainkat izolált és szuperfundált patkány rafe mag szeletben végeztük, amelyből meghatároztuk a [<sup>3</sup>H]szerotonin és [<sup>3</sup>H]glutamát felszabadulást. Kimutattuk, hogy az 5-HT<sub>7</sub> receptorok aktiválása a rafe magokban a szerotonin felszabadulást gátolja. Ez a hatás azonban indirekt: 5-HT<sub>7</sub> receptorok a kortiko-rafe neuronok axon terminálisain helyezkedhetnek el és gátolják a glutamát felszabadulást, ami a szerotonerg neuronok aktivitásának csökkenéséhez vezet (Hársing et al., 2004a; Hársing és Jurányi, 2004c).

Az 5-HT<sub>7</sub> receptorok a rafe magokban heteroreceptor funkciót tölthetnek be. A rafe mag neuronhálózatában való elhelyezkedésüket és szabályzó szerepüket a szerotonin felszabadulásban review közleményben foglaltuk össze (Hársing, 2005a; Hársing, 2006b). megjelenés alatt).